

**شرکت تعاونی تولیدی توزیعی هیات علمی دانشگاه تهران**

**طرح پژوهشی - آزمایش فارمی دارو و مواد افزودنی**

**بررسی اثرات کاربرد « مکمل برتر غذائی آبزیان » در تغذیه بچه ماهیان خاویاری به منظور افزایش تولید و ایمنی مقاومت در برابر تنش های محیطی و پیشگیری از بیماریها**

**کارفرما: شرکت تعاونی تولیدی توزیعی هیات علمی دانشگاه تهران**

**مجری: دکتر قباد آذری تاکامی استاد دانشگاه و رئیس شاخه شیلات فرهنگستان علوم**

**تیرماه ۱۳۹۷**

## ۱- عنوان پروژه

بررسی اثرات کاربرد « مکمل برتر غذائی آبزیان » در تغذیه بچه ماهیان خاویاری به منظور افزایش تولید ، ایمنی و مقاومت در برابر تنش های محیطی و پیشگیری از بیماریها .

## ۲- معرفی دارو ( افزودنی ) و هدف از آزمایش

این افزودنی بی همتا و بسیار مفید که اختصاصاً برای آبزیان تهیه شده است شامل ترکیبات زیر می باشد :

- عصاره های بتا گلوکان ها *B glutans* و ممان اوگیلو ساکارید ها *Mamman oligosacchrides*

( *Mos* ) برگرفته از مخلوط غشاء سلولی ۵ گونه از باکتریهای با سیلوس و مخمر .

- مخلوط آنزیمهای ضروری ؛ آمیلاز ، پروتئاز ، سلولاز ، لیپاز .

- باکتریهای زیست یار *Probiotic bacteria* ( *Paecium lactobacillus acidophilus* )

( *Pediococcus acidilactici* و *Enterococcus* )

-عصاره های تخمیری از *Aspergillus orzae* و *Aspergillus niger* .

به علاوه پرمیکس ویتامینی و عناصر معدنی و ترکیب های اسید آمینه .

هدف از این بررسی : افزایش هیدرولیز و جذب غذا ، افزایش رشد و بهبود فاکتورهای تغذیه ای بهسازی

محرکهای ایمنی ، تأمین باکتریهای مفید دستگاه گوارش ماهی و میگو تأثیر بر عوامل پاتوژن و پیشگیری از

بیماریها و مقاومت در مقابل تنش های محیطی .

این فرآورده به صورت پودر نرم قهوه ای روشن و اندکی تلخ مزه می باشد و به مدت یکسال بویژه در یخچال قابل

نگهداری است .

### ۳- شرح دارو ( یا مواد ) مورد آزمایش شامل ترکیبات ، دوز دارو و راه و نحوه مصرف .

این مواد شامل یک افزودنی یا مکمل غذایی خاص آبزیان است که به عنوان یک محصول کاملاً « ارگانیک » حاوی عصاره غشاء سلولی چند نوع باکتریهای باسیلوس و مخمر عصاره های تخمیری قارچی ، باکتریهای زیست یار و پریمیکس ویتامینی و معدنی و اسیدهای آمینه ضروری است .  
این فرآورده با دوز 150 PPM تا 200 PPM به ترتیب به غذای میگو و ماهی اضافه می شود .  
در موارد اضطراری این دوز می تواند تا 500 PPM به غذای آبزیان اضافه شود .  
با توجه به نوع آبی مورد آزمایش ( بچه ماهیان خاویاری ) غذای مورد نظر مخلوط با مکمل با توجه به وزن و درجه حرارت میزان آن محاسبه و روزانه به مدت حداکثر ۸ هفته مصرف می شود.

### ۴- سیستم آزمایش

#### نوع حیوان :

در این پروژه حیوان هدف بچه ماهیان خاویاری می باشد که در وزنه های ۲ تا ۵ گرمی مورد آزمایش قرار می گیرند . این بچه ماهیان از نظر جنسی ( نر و مادگی ) به صورت ظاهری قابل تفکیک نیستند بنابراین مخلوط آنها در حیطه آزمایش قرار خواهند گرفت .

تعداد ۲۷۰ قطعه از بچه ماهیان در سه تیمار و سه تکرار در حوضچه های مخصوص مورد آزمایش قرار خواهند گرفت . تیمار ۱ و ۲ با سه تکرار با دوز ۲۰۰ و ۳۰۰ قسمت در میلیون و یک تیمار شاهد بدون مکمل در سه تکرار در نظر گرفته شده است . مدت آزمایش حداکثر تا ۸ هفته صورت خواهد گرفت .

محل آزمایش در یکی از مزارع پرورش ماهیان خاویاری در نظر گرفته شده است که با تصویب این پروژه محل دقیق آزمایش انتخاب خواهد شد .

در این پروژه از طرح آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی ( Completely Randomized Design ) CRD در سه تکرار برای هر تیمار و شاهد استفاده می شود .

جهت تجزیه و تحلیل داده ها و میانگین حاصله از هر آزمایش ، از آزمون واریانس دو طرفه ANOVA و جهت تعیین اختلاف معنی دار آماری از روش دانکن در سطح ۹۵ درصد  $P < 0.05$  استفاده می شود . تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزارهای

SPSS 19 و رسم نمودارها به کمک Excel 2015 صورت می گیرد.

### ۵- روش آزمایش به طور دقیق

مراحل اجرای این پروژه به شرح زیر خواهد بود :

۵-۱- انتخاب بچه ماهی خاویاری و معاینات بهداشتی و دامپزشکی و حمل و استقرار بچه ماهیان در حوضچه های مورد بررسی ، آدابتاسیون به محیط آزمایش ، توزین و شمارش تیمارها .

۵-۲- برآورد میزان تغذیه با توجه به وزن و درجه حرارت و محاسبه و طرز اضافه کردن مکمل به غذا و تعیین خط مشی تغذیه و توزین غذا در طول دوره آزمایش .

۵-۳- بیومتری ( زیست سنجی ) بچه ماهیان ۵ بار انجام خواهد شد : بار اول در شروع آزمایش و بار آخر پس از اتمام دوره آزمایش و سه بار در فاصله بین آزمایش ها به مدت هر ۱۵ روز به صورت تصادفی .

۵-۴- میزان درصد زنده مانی % SR بر اساس تعداد تلفاتی که در دوره آزمایش حاصل شده درصد زنده مانی ماهی مورد نظر با فرمول زیر به دست می آید :

$$100 \times \text{تعداد اولیه افراد} / \text{تعداد تلفات در روز N ام} - \text{تعداد اولیه افراد کشت داده شده} = \% \text{ SR}$$

درصد نسبی زنده مانی در این پروژه ( RPS ) **Relative % of Survival**

$$\text{RPC} = \frac{\% \text{ mortality in experimental treatment}}{\% \text{ mortality of Control group}} \times 100$$

بررسی تلفات دوره آزمایش به تفکیک تیمارها و ثبت و شمارش و نگهداری آنها در فرمالین به منظور تعیین درصد نسبی زنده مانی در طول اجرای آزمایش .

۵-۵- بررسی فاکتور رشد ، تولیدی و تغذیه با فرمولهای زیر :

$$\text{SGR} = 100 \times (\text{Ln}w_1 - \text{Ln}w_0) / t$$

شاخص رشد ویژه

**Specific growth rate**

**Ln** : لگاریتم طبیعی

**w1** : وزن نهایی بر حسب گرم

**w0** : وزن اولیه بر حسب گرم

**t** : دوره آزمایش بر حسب روز

$$\text{FCR} = \frac{\text{FC}}{\text{Bf} - \text{Bi}}$$

ضریب تبدیل غذائی **Feed conversion Ratio**

**FC** = غذای مصرف شده ، وزن خشک گرم

**Bf** = بیوماس نهایی ، وزن تر گرم

**Bi** = بیوماس اولیه ، وزن تر گرم

شاخص وضعیت **Condition Factor** میزان فربهی ( چاقی - لاغری )

$$\text{CF} = \frac{W}{L^3} \times 100$$

**W** = وزن بر حسب گرم

**L<sup>3</sup>** = طول بر حسب سانتی متر

بازده مصرف پروتئین Protein efficiency Rate وزن تولید شده به ازای مقدار پروتئین مصرفی :

$$PER = \text{g Live weight gain} / \text{g Protein intake}$$

گرم پروتئین خورده شده / وزن زنده بدست آمده (گرم)

تولید خالص ماهی Body Weight Gain

$$BWG = (W_{t2} - W_{t1}) \times N$$

تعداد ماهی = N وزن اولیه ماهی (گرم) =  $W_{t1}$  وزن نهایی ماهی (گرم) =  $W_{t2}$

6-5- فاکتورهای ایمنی و خون شناسی- در این بررسی پس از خونگیری از ماهیها و جداکردن سرم بوسیله سانتریفوژ و نگهداری در  $80^{\circ}\text{C}$  - برای آزمایش های مربوطه به آزمایشگاه منتقل خواهد شد .

شاخص های ایمنی Lysozyme ، CH 50 ، Igm

قسمتی از خونهای دریافتی با ماده ضد انعقاد جمع آوری شده برای آزمایشهای فاکتورهای خونی به آزمایشگاه منتقل خواهند شد.

شمارش گلبولهای قرمز و سفید ( WBC ، RBC ) ، هماتوکریت ( HCT ) تشخیص افتراقی گلبولهای سفید ( لنفوسیت ، توتروفیل

، بازوفیل ، منوسیت ، ائوزینوفیل ) اندازه گیری هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر g / d lit

Igm کل \_ تشخیص ایمنوگلوبین کل

میزان آلبومین و لیزو زیم سرم

۶- تست های استرس - در این آزمایشها تلفات تیمارهای آزمایش و شاهد تعیین و مقایسه خواهد شد .

تست استرس بافرمالین ۵۰ و ۱۰۰ ppm به مدت ۶۰ دقیقه .

تست شوری ppt ۲۰ و ppt ۳۰ و ppt ۴۰ به مدت ۶۰ دقیقه .

تست کاهش اکسیژن در حرارت نرمال پرورش .

تست حرارتی در حرارتهای ۲۵ و ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت

تست آمونیاک .

۷- بررسیهای فاکتورهای فیزیکی و شیمیائی آب

حرارت  $T^{OC}$  ، PH ، اکسیژن محلول ( mg / lit ) D.O شفافیت transparency .

آمونیاک (  $NH_3\_NH_4$  ) N ( mg / lit ) و نیتريت آب  $NO_2$  mg / lit .

۸- در صورت لزوم تعدادی از ماهیان تیمار آزمایش و شاهد در اختیار دفتر بهداشت و بیماریهای آبزیان سازمان دامپزشکی قرار داده

خواهد شد تا نسبت به رویا روئی نمونه ها ( challenge ) با یکی از بیماریهای عفونی شایع در ایران آزمایش نمایند تا میزان کارآیی

این مکمل در مقابله با بیماری مشخص شود .

**برآوردهای هزینه های پروژه :**

**مواد مصرف شدنی :**

- تهیه و خرید مکمل غذایی آبزیان
  - خرید بچه ماهیان خاویاری ۳۰۰ قطعه
  - تهیه غذا برای تغذیه بچه ماهیان
  - داروهای ضد عفونی و مواد بیهوش کننده ماهی ( پودر میخک )
  - دستکش ، پنبه ، نظیف
  - سایر ملزومات .....
- ریال ۵۰/۰۰۰/۰۰۰/-

**مواد مصرف نشدنی :**

- دستگاهها و کیت های آزمایشگاهی ( تجزیه شیمیایی آب )
  - ظروف و مخازن پرورشی ( وان ، سطل ، ساچوک ، وسایل صید ، بُرس ... )
  - ترازوهای حساس برای توزین بچه ماهیها
  - تخته بیومتری .....
- ریال ۱۲۵/۰۰۰/۰۰۰/-

هزینه های اماکن پرورش ماهی ( آب ، برق ، پرسنل و سایر ... ) ..... ریال ۲۵/۰۰۰/۰۰۰/-

هزینه های پرسنلی : حق التحقیق مجربان و کارشناسی ، دستمزد کارگری و تکنسین ...  
بررسیهای آماری ، تایپ و تکثیر ، عکس و اسلاید و ... .. ریال ۵۰/۰۰۰/۰۰۰/-

هزینه های مسافرت ، اقامت و سایر هزینه های جنبی ..... ریال ۳۰/۰۰۰/۰۰۰/-

هزینه های آزمایشگاهی : فاکتورهای خونی و آنزیمی و تستهای استرس ..... ریال ۸۰/۰۰۰/۰۰۰/-

پیش بینی نشده ..... ریال ۳۰/۰۰۰/۰۰۰/-

ریال ۳۸۰/۰۰۰/۰۰۰/-

جمع